

This Page Is Inserted by IFW Operations  
and is not a part of the Official Record

## **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning documents *will not* correct images,  
please do not report the images to the  
Image Problem Mailbox.**

B4

**Method of and device for increasing the permeability of the skin of cells of living beings**

Patent Number: ☐ US4081340  
Publication date: 1978-03-28  
Inventor(s): ZIMMERMANN ULRICH;; RIEMANN FRIEDRICH;; PILWAT GUNTER  
Applicant(s): KERNFORSCHUNGSANLAGE JUELICH  
Requested Patent: ☐ DE2405119  
Application Number: US19770762320 19770125  
Priority Number(s): DE19742405119 19740202  
IPC Classification: G01N27/00; G01N27/40  
EC Classification: A61K9/50H8B, B01D13/00B, B01D13/04J, C02F1/28H, C12N5/06B, C12N13/00  
Equivalents: ☐ FR2259904, ☐ GB1481480, JP1171030C, ☐ JP50107181, JP58004550B,  
☐ US4154668

---

**Abstract**

---

A method of and device for increasing the permeability of the skin of cells of living beings, according to which the respective cells are introduced in the form of a suspension into an electrically conductive liquid. Thereby there is formed a physiological electrolyte solution which is passed into one of two chambers through a passage of a partition. This partition separates a container into these two chambers, each chamber having an electrode. This passage surrounds the focus of an electric field. The cells in the electrolyte solution are exposed to the electric field while passing from one chamber to the other chamber until macromolecules having a radius of at least 5 Å are exchanged through the cell skin between the solution in the interior of the cells and the physiological electrolyte solution.

---

Data supplied from the esp@cenet database - I2

⑤

Int. Cl. 2:

C 12 K 1-00

⑯ BUNDESREPUBLIK DEUTSCHLAND

DEUTSCHES



PATENTAMT

Behörden Eigentum

DT 24 05 119 A1

⑪

# Offenlegungsschrift 24 05 119

⑫

Aktenzeichen:

P 24 05 119.2-41

⑬

Anmeldetag:

2. 2. 74

⑭

Offenlegungstag:

4. 9. 75

⑮

Unionspriorität:

⑮ ⑮ ⑮

⑮

Bezeichnung:

Verfahren und Vorrichtung zur Erhöhung der Permeabilität der Haut von Zellen von Lebewesen

⑰

Anmelder:

Kernforschungsanlage Jülich GmbH, 5170 Jülich

⑱

Erfinder:

Zimmermann, Ulrich, Dr.; Pilwat, Günter, Dr., Dr.; 5170 Jülich;  
Riemann, Friedrich, 4902 Bad Salzungen

Prüfungsantrag gem. § 28 b PatG ist gestellt

DT 24 05 119 A1

Kernforschungsanlage Jülich  
Gesellschaft mit beschränkter Haftung

Verfahren und Vorrichtung zur Erhöhung der Permeabilität  
der Haut von Zellen von Lebewesen

Die Erfindung bezieht sich auf ein Verfahren zur Erhöhung der Permeabilität der Haut von Zellen von Lebewesen und eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.

Nach einem nicht vorveröffentlichten Vorschlag werden Zellen von Lebewesen in eine, Komplexbildner oder katalytisch wirkende Stoffe enthaltende Lösung mit gegenüber dem Zellinhalt niedrigerer Osmolarität eingegeben. Infolge der erhöhten Permeabilität der Zellhaut findet dabei Stoffaustausch zwischen der im Zellinnern enthaltenen Lösung und der die Komplexbildner oder die katalytisch wirkenden Stoffe enthaltenden Lösung statt. Darauf wird die Osmolarität der die Zellen enthaltenden Lösung durch Zugabe osmotisch aktiver Stoffe, wie Kalzium-, Kalium- und Natriumionen auf die Osmolarität des Zellinhaltes der ursprünglich eingebrachten Zellen erhöht, wobei die Zellhaut ihre Durchlässigkeit für die im Zellinnern enthaltenen Komplexbildner oder katalytisch wirkenden Stoffe verliert, die sie somit einschließt. In der-

- 2 -

artiger Weise behandelte, Komplexbildner enthaltende Zellen werden zum Abtrennen von durch chemische oder physikalische Eigenschaften ausgezeichneten ionisierten Stoffen aus einer wäßrigen Lösung verwendet. Dabei werden die die Komplexbildner enthaltenden Zellen in die die ionisierten Stoffe enthaltende wäßrige Lösung eingegeben, so daß die ionisierten Stoffe durch die als Membran wirkende Zellhaut wandern und durch die Komplexbildner in schwerdissoziierbare oder schwer lösliche Komplexe überführt werden. Indem die Zellen von der wäßrigen Lösung abgetrennt werden, werden so auch die in den Zellen gebundenen ionisierten Stoffe von der wäßrigen Lösung abgetrennt.

Katalytisch wirkende Stoffe enthaltende Zellen werden zum Aufbau oder zum Abbau von durch chemische Eigenschaften ausgezeichneten, in einer wäßrigen Lösung enthaltenen Stoffen verwendet. Die Zellen werden dabei in die wäßrige Lösung so lange eingesetzt, bis die aufzubauenden oder abzubauenen, in der wäßrigen Lösung enthaltenen Stoffe infolge Permeabilität der Haut der Zellen in das Innere der Zellen gewandert, der Aufbau oder der Abbau der Stoffe beendet ist und die Stoffe durch die Haut der Zellen in die wäßrige Lösung gewandert sind, worauf die auf- oder abgebauten Stoffe in an sich bekannter Weise von der wäßrigen Lösung abgetrennt werden.

- 3 -

509836/0783

- 3 -

Der vorgeschlagene, die Erhöhung der Permeabilität bewirkende Verfahrensschritt, in dem die Zellen in eine Lösung mit gegenüber der Osmolarität des Zellinhaltes erniedrigter Osmolarität eingebracht werden, ist jedoch zeitlich aufwendig, da die Erhöhung der Permeabilität nur langsam erfolgt und zudem mehrere, für den Verfahrensschritt wichtige Größen beachtet werden müssen. Außerdem muß für den Fall, daß als Zellen Bakterienzellen verwendet werden und es notwendig ist, die Zellwand zu entfernen, ein zusätzlicher, an sich bekannter Verfahrensschritt angewendet werden, um die Zellwand loszulösen.

Es ist Aufgabe der Erfindung, ein Verfahren zur Erhöhung der Permeabilität der Haut von Zellen von Lebewesen zu schaffen, das einfach, schnell und somit in wirtschaftlicher Weise durchführbar ist, wobei eine Erhöhung der Permeabilität erzielt wird, die einen möglichst weitgehenden Austausch von im Zellinneren und in einer Lösung, in die die Zellen eingebracht worden sind, enthaltenen, einen Radius von wenigstens 5 Å aufweisenden Makromolekülen ermöglicht. Dabei soll die erzielte Erhöhung der Permeabilität in einem einfachen Verfahrensschritt ausheilbar sein. Es ist weiterhin Aufgabe der Erfindung, eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens zu schaffen.

Diese Aufgabe wird bei einem Verfahren der eingangs bezeichneten Art gemäß der Erfindung dadurch gelöst, daß die Zellen in einer, eine zwischen 0°C und 25°C liegende Temperatur aufweisende, elektrischen Strom leitende, eine physiologische

- 4 -

509836/0783

- 4 -

Elektrolytlösung bildende Flüssigkeit als Suspension eingegeben werden, worauf die so gebildete, die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung so lange einem elektrischen Feld ausgesetzt wird, bis einen Radius von wenigstens  $5 \text{ \AA}$  aufweisende Makromoleküle durch die als Membran wirkende Zellhaut zwischen der im Zellinnern enthaltenen Lösung und der physiologischen Elektrolytlösung ausgetauscht werden. Die Feldstärke des die Permeabilitätserhöhung bewirkenden Feldes beträgt dabei zweckmäßigerweise etwa  $10^3$  bis  $10^5$  V/cm.

Das Verfahren gemäß der Erfindung ist diskontinuierlich oder kontinuierlich durchführbar. Zur Durchführung der diskontinuierlichen Verfahrensweise wird ein Behälter, in dem zwei Elektroden angeordnet sind, mit einer Zellen von Lebewesen als Suspension enthaltenden physiologischen Elektrolytlösung gefüllt und auf die Elektrolytlösung ein elektrischer Impuls gegeben. Zur kontinuierlichen Durchführung des Verfahrens gemäß der Erfindung wird in einem mit physiologischer Elektrolytlösung gefüllten Behälter, an dessen Elektroden ein konstantes elektrisches Feld anliegt, die die Zellen als Suspension enthaltende physiologische Elektrolytlösung durch das elektrische Feld geleitet. Dies geschieht vorteilhafterweise dadurch, daß dem Behälter kontinuierlich frische, die Zellen als Suspension enthaltende physiologische Elektrolytlösung zugeführt und zugleich aus dem Behälter die dem elektrischen Feld ausgesetzten Zellen enthaltende Elektrolytlösung abgesaugt wird. Dabei wird zugleich die in der Elektrolytlösung im elektrischen Feld erzeugte Wärme abgeführt. Eine sehr vorteilhafte Verfahrensweise besteht auch darin, daß die die Zellen als Suspension enthaltende physiologische Elektrolytlösung durch den Fokus eines fokussierten elektrischen Feldes geleitet wird. Hierdurch wird eine bessere Ausnutzung des elektrischen Feldes erreicht und

509836/0783

- 5 -

- 5 -

zugleich gewährleistet, daß die durch das elektrische Feld mitgeführten Zellen alle einer nahezu gleichen Feldstärke ausgesetzt werden.

Wie sich gezeigt hat, ist die zur Erhöhung der Permeabilität der Zellhaut erforderliche Verweilzeit der Zellen in dem die Erhöhung der Permeabilität bewirkenden elektrischen Feld sehr gering, so daß Zellen mit erhöhter Permeabilität der Zellhaut einfach und schnell und zudem mit hoher Ausbeute herstellbar sind.

Eine vorteilhafte Variante des Verfahrens gemäß der Erfindung besteht darin, daß die die Zellen enthaltende, physiologische Elektrolytlösung durch eine den Fokus des elektrischen Feldes umschließende Öffnung einer aus elektrisch nicht leitendem Material gebildeten, zwischen den Elektroden des elektrischen Feldes angeordneten Wand geleitet wird. Hierdurch wird eine noch bessere Ausnutzung des elektrischen Feldes erreicht, wobei alle Zellen praktisch dem gleichen elektrischen Feld ausgesetzt werden. Zugleich wird aber auch bewirkt, daß der Austausch von Makromolekülen durch die als Membran wirkende Zellhaut noch vollständiger vor sich geht. Dies ist beispielsweise bei Verwendung von Erythrozyten an der Verfärbung der Elektrolytflüssigkeit infolge des aus dem Zellinnern austretenden Hämoglobins und an der Verfärbung der Erythrozyten erkennbar.

Das Verfahren gemäß der Erfindung ist in vorteilhafter Weise mittels einer Vorrichtung der eingangs bezeichneten Art durchführbar, die aus einem, durch eine aus elektrisch nicht leitendem Material, wie Glas oder dergleichen, gebildeten, einen



- 6 -

Durchgang mit einem Durchmesser von wenigstens 20  $\mu$ m aufweisende Zwischenwand in zwei Kammern geteilten Behälter besteht, wobei in den Kammern jeweils eine Elektrode angeordnet ist und wobei an der die Kammern umschließenden Behälterwandung Leitungsanschlüsse für die Zuführung von physiologischer Elektrolytlösung vorgesehen sind und wobei in die eine Kammer eine die Behälterwandung durchdringende, auf den Durchgang hin gerichtete Zuführungsdüse für die die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung und in die andere Kammer eine die Behälterwandung durchdringende, ebenfalls auf den Durchgang hingerichtete Absaugleitung für die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung hineinragen. Zur Durchführung des Verfahrens gemäß der Erfindung wird der Durchmesser und die Länge des Durchganges und das an den Elektroden angelegte elektrische Feld je nach dem gewünschten Durchsatz so bemessen, daß die angestrebte Permeabilitätserhöhung der Zellhaut bewirkt wird.

Eine vorteilhafte Variante der Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens gemäß der Erfindung besteht darin, daß drei aus einem elektrisch nicht leitenden Material, wie Glas oder dergleichen, gebildete, konzentrisch ineinander angeordnete, eine äußere, eine mittlere und eine innere Kammer bildende Behälter vorgesehen sind, wobei an dem äußeren Behälter zwei Leitungsanschlüsse zur Zuführung von physiologischer Elektrolytlösung und zur Entlüftung angeordnet sind und wobei in dem äußeren Behälter eine elektrische Durchführung für die in der äußeren Kammer angeordneten Elektroden vorgesehen ist und im Zentrum des Bodens des äußeren Behälters eine Düse zur

- 7 -

- 7 -

Zuführung der die Zellen enthaltenden physiologischen Elektrolytlösung hineinragt und wobei an dem oberen Teil des mittleren Behälters ein Leitungsanschluß zur Zuführung von physiologischer Elektrolytlösung und eine elektrische Durchführung für die inneren Elektroden, die in der mittleren Kammer konzentrisch zu den äußeren Elektroden angeordnet sind, vorgesehen sind und wobei der mittlere Behälter am Boden einen der Öffnung der Zuführungsdüse gegenüberliegenden, einen Durchmesser von wenigstens 20  $\mu$ m aufweisenden Durchgang aufweist und wobei in dem oberen Teil des inneren Behälters ein Leitungsanschluß zum Absaugen von die Zellen enthaltender Elektrolytlösung und eine Durchführung für ein Thermoelement oder dergleichen vorgesehen sind und wobei der innere Behälter am Boden eine der Öffnung der Zuführungsdüse und dem in dem Boden des mittleren Behälters vorgesehenen Durchgang gegenüberliegende Öffnung aufweist.

Wie sich gezeigt hat, ist die Permeabilitätserhöhung der Haut der Zellen durch Erwärmung der die Zellen enthaltenden Lösung auf eine zwischen 15 bis 40°C liegende Temperatur nach 1 bis 2 Stunden ausheilbar. Bei Verwendung von Bakterienzellen werden die Zellen dabei zweckmäßigerweise auf eine Temperatur von 20 °C und bei Verwendung von Erythrozyten diese auf eine Temperatur von etwa 37° C erwärmt. Dadurch, daß die erhöhte Permeabilität der Zellhaut ausheilbar ist, sind die Zellen zur Aufnahme von Makromolekülen der verschiedensten Art und somit für verschiedene Anwendungszwecke verwendbar.

Die nach dem Verfahren gemäß der Erfindung hergestellten Zellen von Lebewesen sind daher auch in vorteilhafter Weise in Ver-

- 8 -

509836/0783

- 8 -

fahren zum Abtrennen von durch chemische oder physikalische Eigenschaften ausgezeichneten, ionisierten Stoffen, wie Schwermetallionen oder dergleichen aus einem in einer mindestens 0,5 mM Magnesium- und/oder Kalzium- sowie Kaliumionen enthaltenden wäßrigen Lösung, wie Meerwasser, Süßwasser, Abwasser oder dergleichen, gelösten Stoffgemisch mittels die Abtrennung fördernder, mit den abzutrennenden Stoffen eine Verbindung eingehender organischer oder anorganischer Komplexbildner verwendbar. Dabei werden die Zellen in eine, die Komplexbildner enthaltende Lösung, deren Osmolarität in Grenzen von der Osmolarität des Zellinhaltes der ursprünglichen Zellen und von der Osmolarität der wäßrigen Lösung abweicht, so lange eingesetzt, bis infolge Stoffaustausches durch die als Membran wirkende Zellhaut im Gleichgewichtszustand zwischen der im Zellinneren enthaltenen Lösung und der die Komplexbildner enthaltenden Lösung der Zellinhalt praktisch der die Komplexbildner enthaltenden Lösung entspricht. Zur Ausheilung der Permeabilitätserhöhung wird darauf die die Zellen enthaltende Lösung nach Erwärmung etwa 1 bis 2 Stunden auf einer Temperatur im Bereich von 15 bis 40° C gehalten. Im Anschluß daran werden die den Komplexbildner enthaltenden Zellen von der die Komplexbildner enthaltenden Lösung abgetrennt. Zur Anreicherung der in der wäßrigen Lösung enthaltenen ionisierten Stoffe werden darauf die Zellen in die wäßrige Lösung eingesetzt, bis die aus der wäßrigen Lösung abzutrennenden ionisierenden Stoffe durch die als Membran wirkende Zellhaut in das Innere der Zellen gewandert und durch die Komplexbildner in schwerdissoziierbare oder schwerlösliche Komplexe überführt worden sind. In einer weiteren, an sich bekannten

- 9 -

509836/0783

- 9 -

Verfahrensstufe werden darauf die Zellen von der wäßrigen Lösung abgetrennt.

Die nach dem Verfahren gemäß der Erfindung hergestellten Zellen von Lebewesen sind auch in vorteilhafter Weise in Verfahren zum Aufbau und Abbau von durch chemische Eigenschaften ausgezeichneten, in einer mindestens 0,5 mM Magnesium- und/oder Kalzium- sowie Kaliumionen enthaltenen wäßrigen Lösung gelösten Stoffe mittels den Aufbau oder den Abbau fördernder katalytisch wirkender Stoffe verwendbar. Dabei werden die Zellen in eine katalytisch wirkende Stoffe enthaltende Lösung, deren Osmolarität in Grenzen von der Osmolarität des Zellinhaltes der ursprünglichen Zellen und von der Osmolarität der wäßrigen Lösung abweicht, solange eingesetzt, bis infolge der erhöhten Permeabilität der Zellhaut durch Stoffaustausch der im Zellinnern enthaltenen Lösung und der die katalytisch wirkenden Stoffe enthaltenden Lösung der Zellinhalt praktisch der die katalytisch wirkenden Stoffe enthaltenden Lösung entspricht. Darauf wird die die Zellen enthaltende Lösung nach Erwärmung etwa 1 bis 2 Stunden auf einer Temperatur im Bereich von 15 bis 40° C gehalten. Im Anschluß daran werden die die katalytisch wirkenden Stoffe enthaltenden Zellen von der die katalytisch wirkenden Stoffe enthaltenden Lösung abgetrennt. Zur Durchführung von Verfahren zum Aufbau oder Abbau von Stoffen werden dann die Zellen in die wäßrige Lösung eingesetzt, bis die aufzubauenden oder abzubauenen, in der wäßrigen Lösung enthaltenen Stoffe durch die als Membran wirkende Haut der Zellen in das Innere der Zellen gewandert, der Aufbau oder der Abbau der Stoffe beendet ist und die Stoffe durch die Haut der Zellen in die wäßrige Lösung gewandert sind. Die auf- oder abgebauten Stoffe werden dann in an sich bekannter Weise von der wäßrigen Lösung abgetrennt.

- 10 -

509836/0783

- 10 -

In der Zeichnung sind zwei Ausführungsbeispiele der Vorrichtung gemäß der Erfindung dargestellt und werden im folgenden näher erläutert. Es zeigen

Fig. 1 eine aus einem durch eine Zwischenwand in zwei Kammern geteilten Behälter bestehende Vorrichtung gemäß der Erfindung

Fig. 2 eine aus drei konzentrisch ineinander angeordneten Behältern bestehende Vorrichtung gemäß der Erfindung

Wie aus Fig. 1 hervorgeht, ist der Behälter 1 durch eine Zwischenwand 2, die einen Durchgang 3 aufweist, in die Kammern 4 und 5 aufgeteilt. In den Kammern 4 und 5 ist jeweils eine Elektrode 6 angeordnet. An der Behälterwand sind zur getrennten Durchführung von physiologischer Elektrolytlösung in die Kammern 4 und 5 Leitungsanschlüsse 7 vorgesehen. Zur Durchführung des Verfahrens gemäß der Erfindung wird die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung durch die Zuführungsdüse 8 der Kammer 4 von außen zugeführt und durch den Durchgang 3, der den Fokus des elektrischen Feldes umschließt, über das Absaugrohr 9 wieder aus dem Behälter 1 abgesaugt und in einem in Fig. 1 nicht dargestellten, der Saugpumpe vorgeschalteten, gekühlten Auffanggefäß aufgefangen. Der Verlust an physiologischer Elektrolytlösung wird über die Zuleitungen 7 ausgeglichen.

In Fig. 2 ist eine weiterausgestaltete Vorrichtung gemäß der Erfindung dargestellt, die aus drei konzentrisch ineinander

- 11 -

509836/0783

- 11 -

angeordneten, eine äußere, eine mittlere und eine innere Kammer bildenden Behältern 10, 11 und 12 besteht. In der äußeren und mittleren Kammer sind die Elektroden 13 und 14 angeordnet. Zur Durchführung des Verfahrens gemäß der Erfindung wird die die Zellen enthaltende Elektrolytlösung über die Düse 15 der äußeren Kammer zugeführt und durch den in dem mittleren Behälter 11 vorgesehenen, den Fokus des elektrischen Feldes umschließenden Durchgang 16 und eine, in dem inneren Behälter 12 vorgesehenen Öffnung 17 geleitet. Dies geschieht dadurch, daß über den Leitungsanschluß 18 <sup>18</sup>Elektrolösung angesaugt wird. Die abgesaugten Zellen werden dabei in einem in Fig. 2 nicht dargestellten, der Saugpumpe vorgeschalteten, gekühlten Auffanggefäß aufgefangen. Der während der Durchführung des Verfahrens in der Vorrichtung entstehende Verlust an physiologischer Elektrolytlösung wird über die Leitungsanschlüsse 19 und 20 ausgeglichen. Leitungsanschluß 21 dient lediglich zur Entlüftung der Apparatur. Um eine zu starke Erwärmung und damit Schädigung der Zellen auszuschließen, ist zur Temperaturkontrolle in der inneren Kammer ein Thermoelement 22 vorgesehen.

#### Ausführungsbeispiel.

Etwa 100 ml frisches Rinderblut wurde in einer isotonischen Natriumcitratlösung aufgefangen und die so gebildete Lösung in einer Zentrifuge bei 1 200 g abzentrifugiert. Im Anschluß daran wurden etwa 30 ml der abzentrifugierten, konzentrierten Erythrozyten in 100 ml einer Pufferlösung, die 150 mM NaCl, 16 mM KCl, 4 mM MgCl<sub>2</sub>, 2 mM CaCl<sub>2</sub> und 5 mM Tris je Liter enthielt und deren pH-Wert durch Zugabe von Salzsäure auf 7,4 eingestellt worden war, zweimal

- 12 -

509836/0783

- 12 -

unter jeweiligem Abzentrifugieren gewaschen. Anschließend wurde das Erythrozytenkonzentrat mit Pufferlösung, der 1 mM Adenosin-Triphosphat je Liter zugesetzt worden war im Verhältnis von 10 : 3 verdünnt.

Im Anschluß daran wurde die die Erythrozyten enthaltende Lösung durch die Zuführungsdüse 15 einer in Fig. 2 dargestellten Vorrichtung gesaugt, der zugleich auf 0° C gekühlte, als physiologische Elektrolytlösung dienende Pufferlösung zugeführt wurde. Der Durchmesser und die Länge des in dem mittleren Behälter 11 vorgesehenen Durchganges 16 sowie der Abstand der Spitze der Zuführungsdüse 15 von dem Durchgang 16 betrug 0,45 mm. An den Elektroden war eine Spannung von 350 V angelegt. Der Durchsatz der Erythrozyten durch die Vorrichtung war so bemessen, daß die eingesetzte Menge der Erythrozyten in etwa 30 Minuten die Vorrichtung passiert hatte. Die in dem Auffanggefäß aufgefangenen Erythrozyten wurden bei 0° C und 13 000 g etwa 15 Minuten abzentrifugiert.

Von den abzentrifugierten Erythrozyten wurden im Anschluß daran 0,5 ml in einer Lösung aus 5 ml Pufferlösung und 0,2 ml einer Jod<sup>131</sup>-Albuminlösung, deren spezifische Aktivität 0,1 mCi/ml betrug, suspendiert und etwa eine Stunde auf 0° C gehalten. Darauf wurde die Lösung erwärmt und etwa zwei Stunden auf 37° C gehalten. Im Anschluß daran wurden die Erythrozyten 15 Minuten lang bei 13 000 g  $\angle$  abzentrifugiert und die abzentrifugierten Erythrozyten in Pufferlösung, die 0,1 % Albumin als Träger enthielt, zweimal unter jeweiligem

- 13 -

509836/0783

- 13 -

Abzentrifugieren gewaschen. Die Aktivität des in den Erythrozyten verbliebenen Jod<sup>131</sup> wurde nach Aufschluß der Erythrozyten in einem TriCarb-Flüssigkeitsscintillator gemessen. Die gemessene Aktivität entsprach dabei einer 31 %igen Aufnahme von Jod <sup>131</sup> durch die Erythrozyten aus der Jod<sup>131</sup>-Albumin enthaltenden Lösung.

- 14 -



P a t e n t a n s p r ü c h e

- ① Verfahren zur Erhöhung der Permeabilität der Haut von Zellen von Lebewesen, d a d u r c h g e k e n n - z e i c h n e t, daß die Zellen in einer, eine zwischen  $0^{\circ}$  und  $25^{\circ}$  C liegende Temperatur aufweisende, elektrischen Strom leitende, eine physiologische Elektrolytlösung bildende Flüssigkeit als Suspension eingegeben werden, worauf die so gebildete, die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung so lange einem elektrischen Feld ausgesetzt wird, bis einen Radius von wenigstens  $5 \text{ \AA}$  aufweisende Makromoleküle durch die als Membran wirkende Zelloberfläche zwischen der im Zellinnern enthaltenen Lösung und der physiologischen Elektrolytlösung ausgetauscht werden.
2. Verfahren nach Anspruch 1, d a d u r c h g e k e n n - z e i c h n e t, daß die die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung durch den Fokus eines fokussierten elektrischen Feldes geleitet wird.
3. Verfahren nach Anspruch 2, d a d u r c h g e k e n n - z e i c h n e t, daß die die Zellen enthaltende, physiologische Elektrolytlösung durch eine den Fokus des elektrischen Feldes umschließende Öffnung einer aus elektrisch nicht leitendem Material gebildeten, zwischen den Elektroden des elektrischen Feldes angeordneten Wand geleitet wird.
4. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 3, g e k e n n z e i c h n e t d u r c h einen durch eine aus elektrisch nicht leitendem Material, wie Glas oder dergleichen, gebildete, einen Durchgang (3)

- 15 -

mit einem Durchmesser von wenigstens 20  $\mu$ m aufweisende Zwischenwand (2) in zwei Kammern (4,5) geteilten Behälter (1), wobei in den Kammern (4,5) jeweils eine Elektrode (6) angeordnet ist und wobei an der die Kammern umschließenden Behälterwandung Leitungsanschlüsse (7) für die Zuführung von physiologischer Elektrolytlösung vorgesehen sind und wobei in die eine Kammer (4) eine die Behälterwandung durchdringende, auf den Durchgang (3) hin gerichtete Zuführungsdüse (8) für die die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung und in die andere Kammer (5) eine die Behälterwandung durchdringende, ebenfalls auf den Durchgang (3) hin gerichtete Absaugleitung (9) für die Zellen enthaltende physiologische Elektrolytlösung hineinragen.

5. Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens nach den Ansprüchen 1 bis 3, d a d u r c h g e k e n n z e i c h n e t, daß drei aus einem elektrisch nicht leitenden Material, wie Glas oder dergleichen, gebildete, konzentrisch ineinander angeordnete, eine äußere, eine mittlere und eine innere Kammer bildende Behälter (10,11,12) vorgesehen sind, wobei an dem äußeren Behälter (10) zwei Leitungsanschlüsse (19,21) zur Zuführung von physiologischer Elektrolytlösung und zur Entlüftung angeordnet sind und wobei in dem äußeren Behälter (10) eine elektrische Durchführung für die in der äußeren Kammer angeordneten Elektroden (13) vorgesehen ist und im Zentrum des Bodens des äußeren Behälters (10) eine Düse (15) zur Zuführung der die Zellen enthaltenden physiologischen Elektrolytlösung hineinragt und wobei an dem oberen Teil des mittleren Behälters (11) ein Leitungsanschluß (20) zur Zuführung von physiologischer Elektrolytlösung und eine elektrische Durch-

-16 -

509836/0783

führung für die inneren Elektroden (14), die in der mittleren Kammer konzentrisch zu den äußeren Elektroden (13) angeordnet sind, vorgesehen sind und wobei der mittlere Behälter (11) am Boden einen der Öffnung der Zuführungsdüse (15) gegenüberliegenden, einen Durchmesser von wenigstens 20  $\mu$ m aufweisenden Durchgang (16) aufweist und wobei in dem oberen Teil des inneren Behälters (12) ein Leitungsanschluß (18) zum Absaugen von die Zellen enthaltender Elektrolytlösung und eine Durchführung für ein Thermoelement (22) oder dergleichen vorgesehen sind und wobei der innere Behälter (12) am Boden eine der Öffnung der Zuführungsdüse (15) und dem in dem Boden des mittleren Behälters (11) vorgesehenen Durchgang (16) gegenüberliegende Öffnung (17) aufweist.

-19-

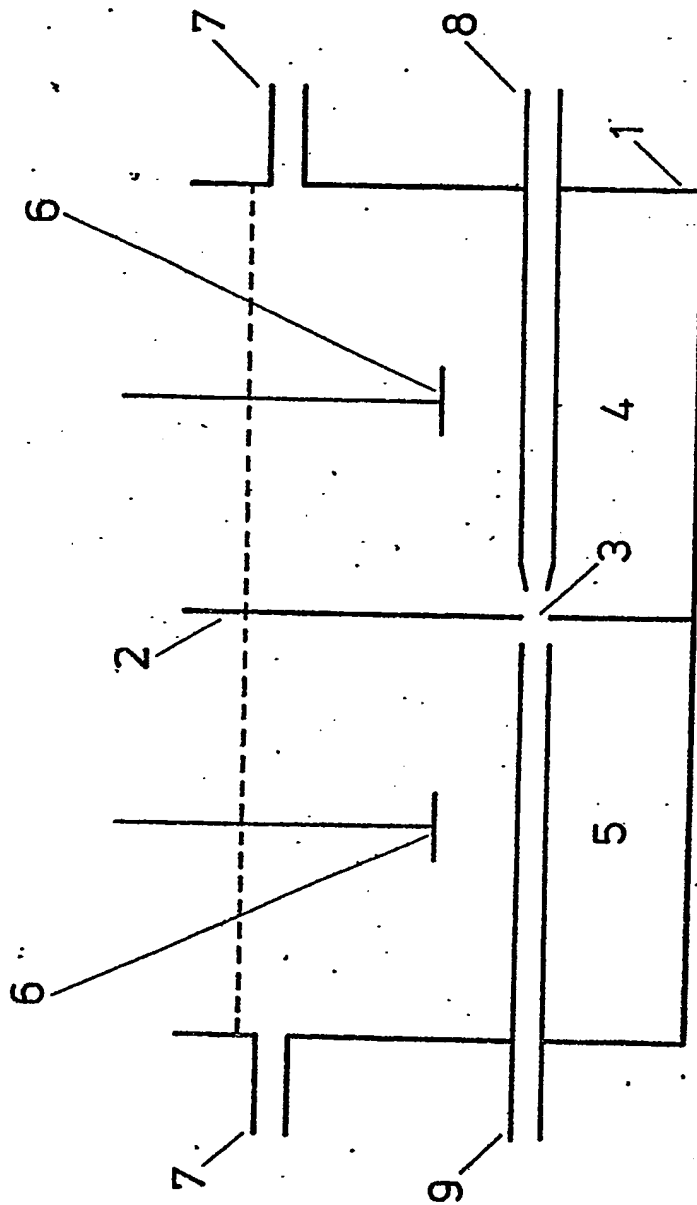


Fig.1

C12K 1-00 AT:02.02.1974 OT:04.09.1975

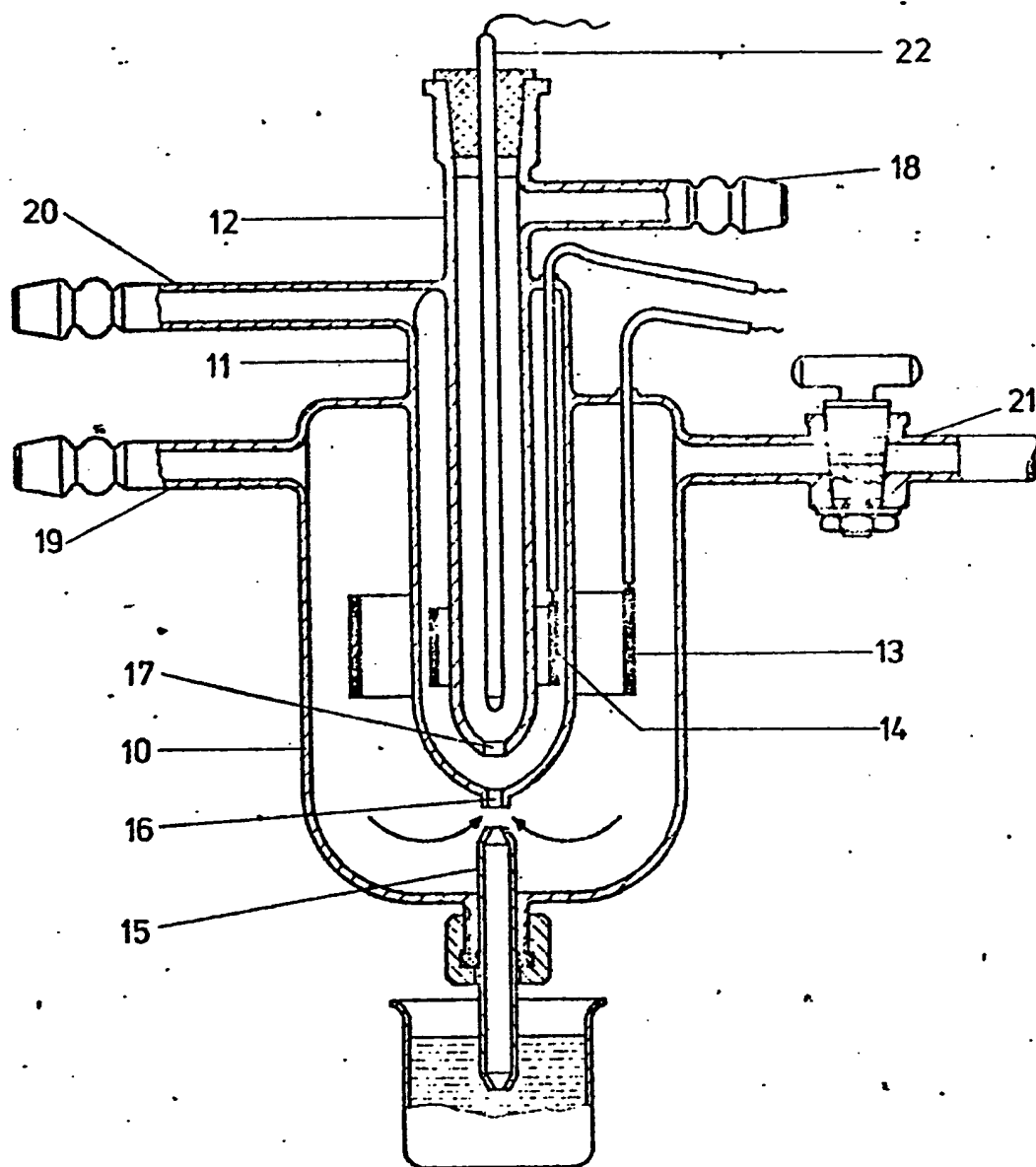


Fig.2

509836/0783

BAD ORIGINAL